

## МАТЕМАТИЧЕСКОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ ИНВАГИНАЦИИ ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ ПЛАСТОВ В ЭМБРИОГЕНЕЗЕ

© 2016 г. С.А. Логвенков, И.Н. Моисеева\*, А.А. Штейн\*

Национальный исследовательский университет, Высшая школа экономики, 101000, Москва, ул. Мясницкая, 20

E-mail: logv@bk.ru

\*Институт механики Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, Россия, 117899, Москва, Мичуринский пр., 1

E-mail: moiseeva.ir@yandex.ru, stein@imec.msu.ru

Поступила в редакцию 20.05.16 г.

Важным типом морфогенетической деформации является инвагинация эпителиальных пластов, одним из наиболее простых и хорошо изученных примеров которой является первичная инвагинация при гастрюляции у морского ежа. Несмотря на значительный объем наблюдений, конкретные механизмы инвагинации остаются неясными. В работе рассмотрена задача о плосконапряженном деформировании первоначально кругового пласта, внутри которого поддерживается постоянное давление. Действие развиваемых клетками активных усилий характеризуется активным моментом. Реология слоя описывается уравнением вязкоупругости максвелловского типа, которое связывает пассивный изгибающий момент с кривизной слоя. При этом учитывается наличие порогового значения пассивного момента, до достижения которого имеет место только упругий изгиб. Активный момент задается как функция координат и времени, отличная от нуля в некоторой ограниченной области. Предполагается его постепенное нарастание, за которым следует стационарное состояние, а затем постепенный спад. Рассмотрены как знакопостоянное пространственное распределение активного момента, так и знакопеременное. Результаты численного решения показали, что из всех рассмотренных вариантов правдоподобная картина изменения форм может быть получена только при вязкоупругом поведении слоя с конечным порогом пассивного изгибающего момента и при знакопеременном распределении стационарного активного момента. Активный момент имеет разный знак во внутренней и периферийной зонах активной области: во внутренней он стремится изогнуть пласт вовнутрь, во внешней – вовне. Проведенное исследование позволяет сделать выводы о характере макроскопической организации инвагинационного процесса и определить направление исследований с целью выяснения клеточных механизмов, способных создать соответствующие усилия.

*Ключевые слова:* математическое моделирование, морфогенез, клеточные системы, активные среды, эмбриональный эпителий.

Эмбриональное развитие животных неразрывно связано с присутствием в тканях закономерно распределенных и стадио-специфичных механических напряжений [1]. В эпителиальных морфогенезах клеточные пласты претерпевают как в норме, так и при патологиях существенные геометрические изменения, контролируемые сложным взаимодействием напряженно-деформированного состояния тканей и активных клеточных реакций. Наблюдаются растяжения, сжатия, изменения толщины и локальные изгибы, которые в различных сочетаниях составляют конкретные морфогенетические движения, лежащие в основе формообразования как отдельных органов, так и всего организма [2].

Механизмы морфогенетических деформаций остаются во многом неясными. Более того, в основном неизвестна пространственно-временная организация усилий, приводящих к наблюдаемым изменениям. Математическое моделирование дает возможность эффективно тестировать различные гипотезы и оценивать степень их правдоподобия.

Инвагинация (впячивание) пласта – морфогенетически важный тип его деформации, в частности, всегда имеющий место при гастрюляции. Один из наиболее изученных и геометрически простых примеров инвагинации – впячивание стенки бластулы морского ежа при гастрюляции [2–6], с которым и будут сопоставляться далее результаты математического моделирования.

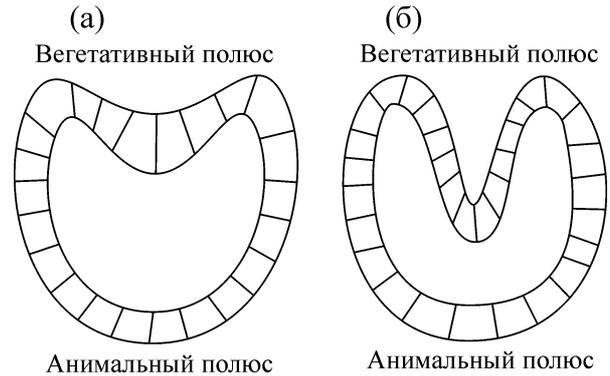
В этом случае до инвагинации, знаменующей начало гаструляции, бластула имеет форму, близкую к сферической, и образована эпителиальным слоем толщиной в одну клетку, окружающим заполненную жидкостью полость (бластоцель). Снаружи клетки эпителия скреплены с оболочкой из достаточно прочного внеклеточного материала (гиалиновый слой) [3,4,6].

При описании геометрических изменений, связанных с гаструляцией, выделяют две фазы процесса. Первичная инвагинация начинается с уплощения и утолщения участка в окрестности вегетативного полюса, что связано с поляризацией клеток вегетативной пластинки и с образованием клеточного веера, хотя и не всегда отчетливо выраженного. Относительно быстрый процесс первичной инвагинации внезапно прекращается по прохождении вершиной вворачивающейся области  $1/4-1/3$  пути до анимального полюса (рис. 1а). Дальнейшее развитие образовавшегося выпячивания – вторая фаза инвагинации – характеризуется резким увеличением его длины и значительным сужением, так что он превращается в длинную тонкую трубку (рис. 1б). Сужается также и образовавшееся в процессе гаструляции отверстие (бластопор). При этом увеличение числа клеток из-за делений не слишком значительно. Такое растяжение обусловлено перераспределением клеток посредством латеральной интеркаляции [7].

Для многих конкретных морфогенетических процессов продемонстрировано, что инвагинация осуществляется за счет усилий, развивающихся внутри пласта. В частности, при гаструляции у морского ежа это убедительно показано для первичной инвагинации, которая развивается на фрагменте стенки, содержащем вегетативную пластинку [8]. При разрезании зародышей на вегетативную и анимальную половину вегетативная половина зародыша или даже меньшие ее участки (вегетативная пластинка) начинали инвагинировать в изоляции от более анимальных частей и при отсутствии контакта с внутренней средой. Глубина выпячивания была при этом примерно такой же, как и в результате осуществления первой фазы инвагинации при нормальном росте.

В литературе обсуждаются многочисленные биофизические механизмы, которым приписывается роль в создании усилий, обеспечивающих первичную инвагинацию. Их систематизацию можно найти в работах [4,6] и условно выделить несколько групп.

Внутриклеточные механизмы приводят к возникновению сил, развиваемых за счет сокращения элементов цитоскелета, стремящихся деформировать клетку, что в силу сцепления с



**Рис. 1.** Схема основных этапов гаструляции морского ежа. Поперечное сечение бластулы на стадии первичной (а) и вторичной инвагинации (б).

другими клетками или внеклеточными структурами ведет к деформированию пласта. Наиболее часто рассматривают сокращение пучков микрофиламентов, локализованных в апикальной области клеток [9,10]. Рассматриваются также усилия в латеральном направлении, развиваемые контрактильным кольцом микрофиламентов, окружающих инвагинирующую область [11,12]. Реже обсуждается возможность сокращения микрофиламентов или развитие усилий микротрубочками в апико-базальном направлении [13]. Все названные механизмы действуют за счет возникновения внутренних сил непосредственно в клетке. Для их реализации во многих случаях необходимо пассивное участие внеклеточных структур.

Рассматриваются также и механизмы, связанные с активными межклеточными взаимодействиями и взаимодействиями между клетками и внеклеточным матриксом, определяющие усилия, возникающие в пласте при распластывании клеток одна по другой [3,13,14]. Межклеточные механические взаимодействия обычно связывают с представлениями о переменной межклеточной адгезии [13,14]. Утверждается, что усилие, заставляющее клетку распластываться по соседней, может изменяться во времени либо по всей поверхности контакта, либо по части этой поверхности. Неоднократно отмечалось [13,15], что механические следствия допущения о переменной адгезивности при рассмотрении инвагинации неотличимы от действия апико-базально направленных активных сил. При этом следует иметь в виду, что распластывание клетки никоим образом не исключает, а наоборот, подразумевает активность цитоскелета.

Рассматриваются также усилия, возникающие в тонком слое внеклеточного матрикса (гиалиновый слой у морского ежа) [16]. Крайне

редко упоминается участие в процессе первичной инвагинации клеточных переупаковок [3,7].

Многими авторами проводились расчеты, имевшие целью проанализировать различные конкретные гипотезы [4,15,17–25]. Они не позволили сделать достаточно убедительные выводы о превосходстве одних возможных механизмов над другими. Все такие расчеты выполнялись на громоздких конечно-элементных моделях, доступных только численному исследованию и не допускающих качественного анализа. Кроме того, они опирались на представление о пласте как о чисто упругом теле, на который наложено некоторое пространственное распределение внутренних усилий. Ниже будет показано, что такое представление в принципе не может обеспечить распределение геометрических характеристик, адекватное наблюдаемому.

Последующее моделирование инвагинации носит достаточно общий характер, однако при сравнении с данными наблюдений будут использоваться факты, относящиеся к первичной инвагинации у морских ежей.

В предлагаемой работе использован максимально обобщенный подход, основанный на представлении полного напряжения в клеточной среде как суммы активной и пассивной составляющих. Для второй из них принята зависимость от деформаций, соответствующая вязкоупругому поведению максвелловского типа. Расчеты выполнялись в двумерной постановке с использованием квазиодномерных соотношений, в которых динамические переменные представлены усредненными по сечению пласта силами и моментами. Численно исследуются следствия согласующихся с экспериментальными данными допущений о распределении активных усилий в пласте и его пассивных свойствах, которые приводят к формообразованию, характерному для инвагинации. Обсуждаются механизмы клеточного уровня, способные обеспечить необходимую структуру активности.

Первоначальная постановка задачи и предварительные результаты были кратко опубликованы ранее [26].

## МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ И ПОСТАНОВКА ЗАДАЧИ

В развивающихся эпителиальных тканях деформация на клеточном уровне обеспечивается двумя кинематически различными механизмами: деформациями составляющих пласт клеток и их переупаковкой, т.е. проскальзыванию клеточных мембран одна относительно другой с

перестройкой клеточных контактов и, вообще говоря, возможной в результате сменой соседей (в последнем случае говорят об интеркаляциях). Будем исходить из следующих основных допущений, обобщающих многочисленные данные экспериментов и наблюдений, полученные на различных объектах [27,28]

1. Субклеточные механизмы, способны развивать усилия, деформирующие клетку. Имеются субклеточные структуры, которые обеспечивают развитие усилий как для поляризации клеток, так и для возвращения составляющих эпителиальный пласт клеток к относительно эквидиаметрической форме. Если такое возвращение затруднено, соответствующие усилия становятся стимулом переупаковки. В этих реакциях принимают участие как механическая активность цитоскелета, так и тургорное давление, распирающее клетку.

2. Механическое нагружение клеток (за счет усилий, как приложенных извне, так и развиваемых ее внутренними структурами) приводит к двум основным реакциям: быстрой обратимой деформации, определяемой деформациями отдельных клеток, и медленной необратимой деформации, определяемой переупаковкой и направленной на возвращение клеток к нормальной (изодиаметрической) форме.

3. Переупаковка имеет пороговый характер – нужен достаточно высокий уровень нагружения для того, чтобы она начала развиваться.

Модель эмбрионального эпителия, в которой форма клеток является управляющим параметром, контролирующим активную клеточную реакцию, направленную на изменение напряженно-деформированного состояния среды, рассмотрена в работе [28]. В настоящей работе будет использоваться более простая модель, учитывающая сформулированные выше свойства без явного учета формы клеток.

Воспользуемся общими представлениями об активных напряжениях в сплошной среде, представляющей развивающуюся ткань [29]. Будем исходить из того, что полное напряжение в среде является суммой активной и пассивной составляющих. Первую из них будем связывать с действием внутренних для клетки сил, стремящихся изменить ее форму (активность цитоскелета, тургорное давление и т.д.), вторую – с усилиями, связанными с деформациями (упругими и неупругими) клеточной среды. Конкретизируя модель и предполагая упругое поведение ткани линейным, будем описывать течение такой среды соотношениями следующей структуры:

$$\boldsymbol{\sigma} = \mathbf{N} + \boldsymbol{\sigma}_p, \quad \mathbf{e} = \frac{d}{dt}(\mathbf{A}\boldsymbol{\sigma}_p) + \mathbf{e}_i(\boldsymbol{\sigma}_p). \quad (1)$$

Соотношения выписаны в общей тензорной форме, хотя возможность их приложения для трехмерных задач общего вида остается открытой и в настоящей работе не рассматривается (см. работы [28,30]). Здесь  $\boldsymbol{\sigma}$  – тензор напряжений,  $\mathbf{N}$  и  $\boldsymbol{\sigma}_p$  – тензоры активных и пассивных напряжений,  $\mathbf{A}$  – тензор упругих коэффициентов,  $\mathbf{e}$  и  $\mathbf{e}_i$  – тензоры скоростей полных и неупругих деформаций. Второе из соотношений (1) описывает вязкоупругое поведение среды максвелловского типа – быстрый упругий отклик и последующую ползучесть, скорость которой определяется пассивными напряжениями. Такая ползучесть не обязательно чисто пассивна и может включать активное взаимное перемещение клеток. Упругое слагаемое в правой части этого соотношения соответствует свойству клеток возвращаться к эквидиаметрической форме при снятии нагрузки, тогда как другое слагаемое описывает растяжение клеточной среды под нагрузкой. В соответствии с третьим из перечисленных выше общих допущений, при напряжениях ниже некоторого порогового уровня течение (связанное с взаимным перемещением клеток) не развивается и в правой части второго уравнения (1) должно сохраниться лишь первое слагаемое. Соответствующие соотношения в общем виде здесь не рассматриваются и будут введены ниже для частного класса процессов.

Механизмы управления активным напряжением  $\mathbf{N}$  предполагают обратные связи с состоянием объекта (прежде всего с формой клеток), которые, однако, не учитываются в данной работе. Наша цель – найти на конкретном примере инвагинации пласта распределение (в пространстве и времени) активных усилий, обеспечивающее наблюдаемые геометрические изменения.

Далее будем интересоваться качественной стороной процесса инвагинации. Поэтому для простоты анализа рассмотрим, считая состояние материала плосконапряженным, двумерную задачу об изгибании замкнутого, первоначально кругового, плоского слоя с постоянным вдоль некоторой оси (но меняющимся во времени) поперечным сечением, внутри которого поддерживается постоянное внутрислойное давление  $p$ . Учитывая малость толщины слоя по сравнению с характерным размером бластулы, введем усредненные по толщине слоя величины, отнесенные к некоторой опорной линии (поверхности). Выбор опорной линии достаточно произволен, однако целесообразно вы-

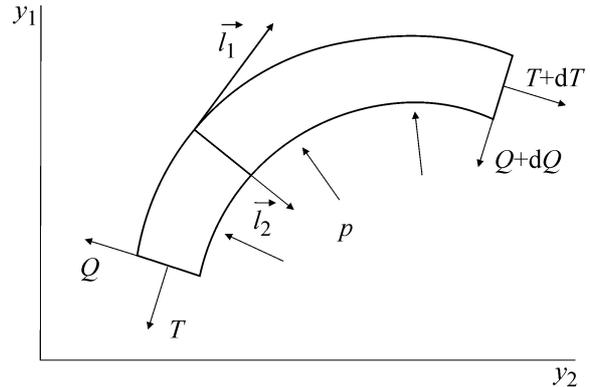


Рис. 2. Усредненные динамические характеристики, определяющие деформирование плоского пласта.

бирать ее в наименее деформируемой части пласта. Поэтому при наличии тонкой области повышенной жесткости (внешний гиалиновый слой в бластule морского ежа) разумно отождествлять опорную линию именно с этим объектом. В дальнейшем примем условие нерастяжимости опорной линии.

В каждой точке опорной линии в деформированном состоянии выберем локальный базис, образованный единичным вектором  $\vec{l}_1$ , направленным по касательной к опорной линии в сторону возрастания отсчитываемой вдоль пласта координаты  $S$  и единичным вектором  $\vec{l}_2$ , ортогональным к  $\vec{l}_1$ , лежащим в плоскости сечения и направленным во внутреннюю область (рис. 2). Среднее по толщине слоя значение произвольной величины  $\phi$  определяется по формуле

$$\langle \phi \rangle = \frac{1}{\delta} \int_0^{\delta} \phi dx_2.$$

Здесь  $\delta$  – толщина слоя; интегрирование проводится по сечению, перпендикулярному опорной линии; координата  $x_2$  отсчитывается от опорной линии в сторону внутренней полости.

Напряженное состояние пласта характеризуется растягивающей силой  $T = \delta \langle \sigma_{11} \rangle$ , перерезывающей силой  $Q = \delta \langle \sigma_{12} \rangle$  и изгибающим моментом  $M = -\delta \langle \sigma_{11} x_2 \rangle$ , отнесенными к единице длины в направлении, перпендикулярном плоскости рисунка.

Тогда для усредненных величин справедливы следующие уравнения равновесия, записанные в локальной системе координат [31]:

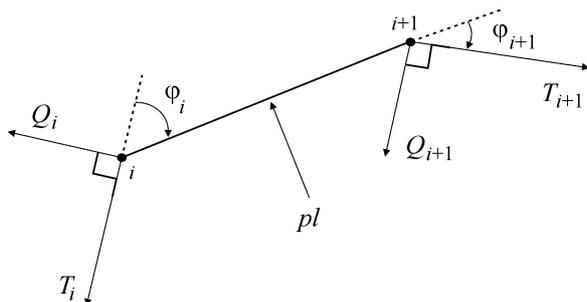


Рис. 3. Схема действия сил на звено с номером  $i$ . Стрелкой указано положительное направление отсчета углов.

$$\begin{aligned} \frac{\partial T}{\partial S} - Qk = 0, \quad \frac{\partial Q}{\partial S} + Tk - p = 0, \\ \frac{\partial M}{\partial S} + Q = 0, \quad k = -\frac{\partial \alpha}{\partial S}. \end{aligned} \quad (2)$$

Здесь  $\partial S$  – элемент длины опорной линии,  $k$  – кривизна этой линии,  $\alpha$  – угол, отсчитываемый по часовой стрелке от положительного направления оси  $Oy_1$  до касательной к опорной линии. Уравнения (2) не содержат каких-либо допущений о природе действующих сил.

Система уравнений (2) должна замыкаться с использованием уравнений состояния (1). В общем случае процедура усреднения последних достаточно сложна, если учитывать неоднородность распределения переменных по толщине слоя, и требует учета высших моментов. Будем предполагать, что действие активных напряжений в пласте можно интегрально описать эффективным активным моментом  $G$  [32]. В соответствии с общим подходом, представленным уравнениями (2), примем следующие соотношения, связывающие активный момент  $G$ , изгибающий момент  $M$  и изменение кривизны  $k$ :

$$M = M_p + G, \quad \frac{dk}{dt} = \frac{d}{dt} \frac{M_p}{B} + \psi(M_p). \quad (3)$$

Здесь  $B$  имеет смысл изгибной жесткости, а функция  $\psi$  принимается в виде

$$\begin{aligned} \psi(M_p) = 0 \quad \text{при } |M_p| < M^*, \\ \psi(M_p) = \frac{1}{\theta}(M_p - M^*) \quad \text{при } M_p > M^*, \end{aligned} \quad (4)$$

$$\psi(M_p) = \frac{1}{\theta}(M_p + M^*) \quad \text{при } M_p < -M^*.$$

Соотношения (4) описывают те же эффекты, что и общие реологические соотношения (1), в том числе существование порогового напряженного состояния среды, характеризующегося в

данном случае пороговым пассивным моментом  $M^*$ , ниже которого не включается механизм необратимого деформирования. Зависимость изменения кривизны от  $M_p$  в запороговой области считается линейной.

Уравнения (2)–(4) образуют полную систему уравнений для нахождения неизвестных  $T$ ,  $Q$ ,  $M$  и  $k$ , описывающих распределение сил, изгибающего момента и кривизны слоя по тангенциальной координате  $S$ .

При анализе формообразования замкнутого пласта его первоначальная форма считается круговой с радиусом, равным  $R_0$ . В пласте задается изменяющееся во времени, начиная с некоторого начального момента времени, распределение активного момента  $G$  по координате  $S$ . Ищутся деформации пласта, соответствующие различным законам такого распределения.

В качестве граничных условий используются условия периодичности для сил и изгибающего момента. Начальные условия для этой системы при  $t = 0$ :  $k = 1/R_0$  и  $M = 0$ .

## ЧИСЛЕННЫЕ РАСЧЕТЫ

При численных расчетах использовалось представление замкнутой кривой многоугольником, состоящим из звеньев одинаковой постоянной длины  $l$ . Схема приложения сил к каждому звену представлена на рис. 3. Условия равновесия для каждого звена имеют следующий вид:

$$\begin{aligned} T_{i+1} \cos \varphi_{i+1} - T_i \cos \varphi_i - Q_{i+1} \sin \varphi_{i+1} - Q_i \sin \varphi_i = 0, \\ T_{i+1} \sin \varphi_{i+1} + T_i \sin \varphi_i + Q_{i+1} \cos \varphi_{i+1} - Q_i \cos \varphi_i = pl, \\ M_{i+1} - M_i + Q_i l \cos \varphi_i - T_i l \sin \varphi_i + pl^2/2 = 0, \\ M_i = (G_i + M_{p_i}) \cos \varphi_i, \\ \frac{1}{B} \Delta M_{p_i} = \Delta k_i \quad \text{при } |M_{p_i}| < M^*, \end{aligned} \quad (5)$$

$$\frac{1}{B} \Delta M_{p_i} + (M_{p_i} - M^*) \frac{\Delta t}{\theta} = \Delta k_i \quad \text{при } M_{p_i} > M^*,$$

$$\frac{1}{B} \Delta M_{p_i} + (M_{p_i} + M^*) \frac{\Delta t}{\theta} = \Delta k_i \quad \text{при } M_{p_i} < -M^*,$$

$$k_i = \frac{2 \sin(\varphi_i/2)}{l \sqrt{\cos(\varphi_i/2)}}.$$

Здесь символом  $\Delta$  обозначена разность значений величин на текущем и предыдущем временных шагах, а радиус кривизны в каждой точке определяется как среднее геометрическое радиусов вписанной и описанной окружностей относительно треугольника с вершинами в узлах с номерами  $i - 1$ ,  $i$  и  $i + 1$ . Присутствие

множителя  $\cos\varphi$ ; в четвертом уравнении системы (5) объясняется тем, что силы, распределенные по торцевой поверхности звена с номером  $i + 1$ , граничащей со звеном с номером  $i$ , и действующие на него, составляют угол  $\varphi$ ; с нормалью к торцевой поверхности стержня с номером  $i$ .

На каждом шаге для приращений сил, момента и кривизны использовались линеаризованные соотношения, соответствующие соотношениям (5) и выписанные в безразмерных переменных:

$$\begin{aligned} \tilde{Q} &= \frac{QR}{G_*}, \quad \tilde{T} = \frac{TR}{G_*}, \quad \tilde{p} = \frac{pR^2}{G_*}, \quad \tilde{G} = \frac{G}{G_*}, \quad \tilde{M} = \frac{M}{G_*}, \\ \tilde{M}_p &= \frac{M_p}{G_*}, \quad \tilde{M}^* = \frac{M^*}{G_*}, \quad \tilde{l} = \frac{l}{R}, \quad \tilde{t} = \frac{tG_*}{\Theta R}, \quad \tilde{B} = \frac{BR}{G_*}, \end{aligned}$$

где  $G_*$  – некоторое характерное значение активного изгибающего момента.

Полученная для приращений линейная система алгебраических уравнений решалась численно методом Гаусса. Значения неизвестных величин на следующем шаге (по времени) находятся сложением найденных приращения с известными на предыдущем шаге значениями величин. Расчеты проводились в широком интервале значений задаваемых величин. В качестве базовых были выбраны следующие значения безразмерных параметров, при которых моделируемые эффекты хорошо выражены:  $\tilde{p} = 0,05$ ,  $\tilde{B} = 2$ ,  $\tilde{M}^* = 0,1$ .

Найденные в результате расчетов последовательности форм во времени качественно сравнивались с наблюдаемыми при первичной инвагинации у морского ежа. Чисто упругое поведение пласта, соответствующее бесконечно большому порогу  $\tilde{M}^*$ , не дает правдоподобной картины геометрических изменений ни при каких распределениях активного момента. Упругая модель недостаточна хотя бы потому, что в рамках этой модели возникшая форма после прекращения механической активности (сброса активного момента  $G$ ) возвращается к первоначально круговой (если не перейден порог собственно упругой устойчивости). Кроме того, расчеты по чисто упругой модели не приводят к формам с отчетливо локализованной областью инвагинации, как это происходит в реальности.

Расчеты, проведенные для различных распределений активного момента, показали, что формы, сходные с реальными, образуются лишь при определенных особенностях такого распределения, а именно: активный момент отличен от нуля в некоторой ограниченной области,

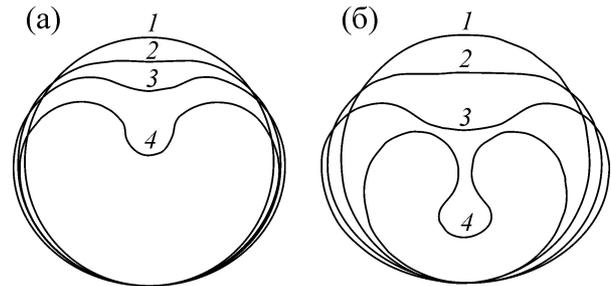


Рис. 4. Эволюция формы слоя при различных распределениях активного момента: а – знакопеременный активный момент, б – знакопостоянный активный момент. Кривые 1, 2, 3, 4 получены при номере шага 0, 20, 100, 280 соответственно.

которую можно отождествить с вегетативной пластинкой (~1/4 круга), причем имеет разный знак во внутренней и периферийной зонах этой области: во внутренней зоне он стремится изогнуть пласт вовнутрь, во внешней – вовне. При таком характере распределения  $G$  воспроизводятся все основные геометрические особенности первичной инвагинации: отчетливое выделение области инвагинации, близкая к нормальной ориентация боковой стенки впячивания.

Эволюция формы слоя при различных распределениях активного момента показана на рис. 4. В полярных координатах, связанных с поперечным сечением слоя в недеформированном состоянии, стационарное распределение активного момента, используемое в расчетах, описывается следующей зависимостью:  $\tilde{G} = 2,5$  при  $|\alpha| \leq \pi/12$ ,  $\tilde{G} = -1$  при  $\pi/12 < |\alpha| < \pi/8$  и  $\tilde{G} = 0$  при остальных значениях углов (отсчет углов производится от верхней точки окружности).

Распределения со знакопостоянным активным моментом  $\tilde{G} = 2,5$ , отличным от нуля только при значениях углов  $|\alpha| \leq \pi/8$  (а к такому могут быть сведены все имеющиеся в литературе попытки моделирования), не позволяют воспроизвести все эти особенности и, более того, приводят к появлению ненаблюдаемых форм: сплюснутость бластулы в вентрально-анимальном направлении, расширение вершины архентерона.

Развитие инвагинации во времени адекватно воспроизводится постепенным нарастанием активного момента с последующим спадом. В процессе деформации в этом случае выделяются две стадии: накопление активного момента при небольших деформациях (упругая стадия) и процесс значительной неупругой деформации, завершаемой сбросом активного момента. При этом достаточно высокий уровень пороговой величины  $\tilde{M}^*$  и достаточно длительное пребы-

вание системы в запороговой области позволяют ей закрепить достигнутую форму, а не возвращаться к исходной только под действием давления в полости.

Повышение внутреннего давления (которое может иметь место из-за изменения осмотической разности между полостью и внешней средой) замедляет инвагинацию и при достаточно высоком уровне может ее остановить, что подтверждается экспериментальными данными [33].

Расчеты показывают, что действие рассмотренного механизма достаточно устойчиво в том смысле, что характеристики формоизменения мало чувствительны к деталям распределения активного момента: его значительное варьирование не нарушает общей картины.

### ОБСУЖДЕНИЕ

Принятый в настоящей работе подход, основанный на использовании обобщенных характеристик механического состояния пласта, позволяет сделать выводы столь же общего характера о способе организации инвагинационного процесса. Однако теперь возникает другая проблема – понять, какие клеточные механизмы способны создать соответствующие усилия. Несмотря на недостаточность данных для окончательных заключений, можно попытаться интерпретировать поведение пласта во внутренней части области изгиба на языке клеточных взаимодействий следующим образом. Как известно, ко времени начала инвагинации в области вегетативной пластинки формируется зона вытянутых (поляризованных) клеток. Если внутриклеточные силы развивают усилие, стремящееся вернуть клетку к нормальной (эквидиаметрической) форме, сохраняя при этом скрепленность в апикальной области с достаточно жестким гиалиновым слоем, то в слое возникает момент, изгибающий вовнутрь. Механическое поведение клеток на границе активной зоны столь простой интерпретации не поддается и нуждается в специальном изучении. Скорей всего, в микродинамике пласта значительна роль гиалинового слоя: сцепление/расцепление с ним позволяет клетке значительно изменять свое механическое состояние, что приводит к изменению механического состояния пласта.

Сформулированная нами модель позволила описать основные кинематические характеристики процесса инвагинации на основе лишь общих механических свойств системы. Предложенная выше попытка интерпретации на клеточном уровне предварительна и, возможно, спорна. Вместе с тем теперь очевидно, что

детализацию механики процесса можно искать только среди механизмов, обеспечивающих знакопеременный активный момент. Кроме того, инвагинация по существу связана с неупругой составляющей клеточных взаимодействий, т. е. прежде всего с взаимным перемещением клеток одна относительно другой (в обобщенном смысле переупаковкой). В конечном счете поиски такой детализации требуют как дополнительных экспериментальных исследований, так и более детального моделирования, основанного на явном учете связи форм клеток с механическими характеристиками.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 16-01-00504).

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. L. V. Belousov, J. G. Dorfman, and V. G. Cherdantsev, *J. Embriol. Exp. Morphol.* **54**, 553 (1975).
2. S. F. Gilbert, *Developmental biology*. 2<sup>nd</sup> ed. (Sinauer Associates, Sunderland, Mass., 1988).
3. R. D. Burke, R. L. Myers, T. L. Sexton, and C. Jackson, *Dev. Biol.* **146**, 542, Vol. 146, p. 542 (1991)
4. L. A. Davidson, M. A. R. Koehl, R. Keller, et al., *Development* **121**, 2005 (1995).
5. R. Keller, L. A. Davidson, and D. R. Shook, *Differentiation* **71**, 171 (2003).
6. T. Kominami and H. Takata, *Develop. Growth Differ.* **46**, 309 (2004).
7. J. D. Hardin and L. Y. Cheng, *Dev. Biol.* **115**, 490 (1986).
8. C. A. Etnensohn, *Am. Zool.* **24**, 571 (1984).
9. W. H. Lewis, *Anat. Rec.* **97**, 139 (1947).
10. J. M. Sawyer, J. R. Harrell, G. Shemer, et al., *Dev. Biol.* **341** (1), 5 (2010).
11. P. Martin and J. Lewis, *Nature* **360**, 179 (1992).
12. A. C. Martin, *Dev. Biol.* **341** (1), 114 (2010).
13. T. Gustafson and L. Wolpert. *Int. Rev. Cytol.* **15**, 139 (1963).
14. C. A. Etnensohn, *Quart. Rev. Biol.* **60** (3), 289 (1985).
15. D. A. Clausi and G. W. Brodland, *Development* **118**, 1013 (1993).
16. M. C. Lane, M. A. R. Koehl, F. Wilt, et al., *Development* **117**, 1049 (1993).
17. X. Chen and G. W. Brodland, *Phys. Biol.* **5** (1), 015003 (2008).
18. G. W. Brodland, *Int. Rev. Cytol.* **150**, 95 (1994).
19. G. W. Brodland and D. A. Clausi, *J. Biomech. Eng.* **116**, 146 (1994).
20. G. W. Brodland and D. A. Clausi, *Biochem. Cell Biol.* **73**, 545 (1995).
21. G. W. Brodland, X. Chen, P. Lee, et al., *HFSP J.* **4**, 142 (2010).

22. R. Allena, A. S. Mouronval, and D. Aubry, *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* **3**, 313 (2010).
23. V. Conte, J. J. Munoz, B. Baum, et al., *Phys. Biol.* **6** (1), 016010 (2009).
24. V. Conte, F. Ulrich, B. Baum, et al., *PLoS One*, **7** (4), e34473 (2012).
25. A. Hocevar Brezavscek, M. Rauzi, M. Liptin, et al., *Biophys. J.* **103** (5), 1069 (2012).
26. И. Н. Моисеева и А. А. Штейн, *Тезисы докладов VI Всеросс. конф. по биомеханике* (ИПФ РАН, Нижний Новгород, 2002), с. 50.
27. L. V. Belousov, N. N. Louchinskaia, and A. A. Stein, *Dev. Genes Evol.* **210**, 92 (2000).
28. Л. В. Белоусов, С. А. Логвенков, and А. А. Штейн, *Изв. РАН. Мех. жидк. и газа.* **1**, 3 (2015).
29. A. A. Stein, in *Biomechanics of Active Movement and Division of Cells*, ed. N. Akkas (Springer-Verlag., NATO ASI Series, Berlin, 1994), **Н84**, pp. 459–464.
30. Н. Н. Кизилова, С. А. Логвенков и А. А. Штейн, *Изв. РАН. Мех. жидк. и газа* **1**, 3 (2012).
31. С. П. Тимошенко, *Курс теории упругости* (Наук. думка, Киев, 1972).
32. Л. В. Белоусов, А. А. Штейн, Н. Н. Лучинская и др., в *Современные проблемы биомеханики. Механика роста и морфогенеза*, под ред. Л. В. Белоусова и А. А. Штейна (Изд-во МГУ, М., 2000), т. **10**, с. 20.
33. A. R. Moore, *J. Exp. Zool.* **87**, 101 (1941).

## Mathematical Modeling of Invagination of Epithelial Layers in Embryogenesis

S.A. Logvenkov\*, I.N. Moiseeva\*\* and A.A. Stein\*\*

\*National Research University, Higher School of Economics, ul. Myasnitskaya 20, Moscow, 101000 Russia

\*\*Institute of Mechanics, Lomonosov Moscow State University, Michurinsky pr. 1, Moscow, 117899 Russia

The invagination of epithelial sheets is an important type of morphogenetic deformation. Primary invagination during gastrulation in sea urchin is one of the simplest and well-studied examples. The specific mechanisms of invagination remain unclear in spite of numerous observations. The problem of plane-stress deformation of the initially circular layer under the action of internal constant pressure is considered. The active forces developed by the cells are characterized by the active moment. The rheology of the layer is described by the Maxwell-type viscoelasticity equation which links the passive bending moment with the curvature of the layer. The presence of a threshold for the passive moment, below which bending is purely elastic is taken into account. The active moment is specified as a function of coordinates and time, nonzero in a certain bounded region. It is assumed to gradually increase, which is followed by a steady state and then gradual decline. Spatial active moment distributions of both constant and alternating sign are considered. The numerical simulation showed that among all variants considered the realistic sequence of shapes can only be obtained if the layer is viscoelastic with a finite threshold for the passive bending moment and the active moment distribution is of alternating sign. The sign of active moment is different in the inner and outer areas of the active region: it tends to bend the sheet inward in the inner area and outward in the outer. The study enables us to make some conclusions about the nature of macroscopic organization of invagination and to outline the direction of research to elucidate cellular mechanisms capable of developing the corresponding forces.

*Key words: mathematical modeling, morphogenesis, cellular systems, active media, embryonic epithelium*